OLIVER, C. P. 1930. *The effect of varying the duration of X-ray treatment upon the frequency of mutation.* Science 71: 44-46.
STEVENS, W. L. 1942. *Accuracy of mutation rates.* J. Genet. 43: 301-307.
ULRICH, H. 1958. *Die mutagene Röntgenstrahlenwirkung auf das ungefurchte* Drosophila-*Ei und ihre Sauerstoffabhängigkeit.* Rev. suisse Zool. 65: 442-448.
WÜRGLER, F. E. 1960. *Die Sauerstoffabhängigkeit der Abtötungs- und Mutationsrate bei Röntgenbestrahlung von* Drosophila-*Zygoten.* Rev. suisse Zool. 67: 295-302.

N° 24. **Friedrich E. Würgler,** Zürich. — Die Sauerstoffabhängigkeit der Abtötungs- und Mutationsrate bei Röntgenbestrahlung von *Drosophila*-Zygoten.[1] (Mit 3 Textabbildungen.)

Zoologisches Institut der E. T. H.

Die Strahlenwirkungen auf verschiedenste Objekte lassen sich durch zahlreiche chemische und physikalische Milieufaktoren beeinflussen. Für das Verständnis der Mutagenese bei höheren Organismen ist der Sauerstoff-Effekt von besonderem Interesse. Bei *Drosophila* war die Untersuchungsmethode meistens die folgende: Wildtyp ♂♂ wurden als Puppen oder Imagines in verschiedenen Gasatmosphären bestrahlt, mit ♀♀ eines Teststammes ausgekreuzt und die Nachkommen in der F_2 auf rezessive Letalfaktoren geprüft. Um die einzelnen, auf verschiedenen Stadien der Spermatogenese bestrahlten Keimzellen getrennt auf Mutationen zu prüfen, paarte man die ♂♂ in bestimmten Zeitabtänden mit neuen, virginen ♀♀. Als Resultat schien sich folgendes abzuzeichnen:

a) die verschiedenen Stadien der Spermatogenese sind verschieden empfindlich für die Sauerstoffkonzentration in der Umgebung während der Bestrahlung (OSTER 1958);

b) der Sauerstoffeffekt ist dosisabhängig und nimmt mit steigender Dosis ab (H. FRITZ-NIGGLI 1959 *a*, *b*).

---

[1] Ausgeführt mit Unterstützung des Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

Da aber die oben beschriebene Methode manche Unsicherheiten enthält (schwierige Verdrängung des Sauerstoffes aus den Zellen, mögliche germinale Selektion, ungenaue Erfassung der Stadien etc.), waren von der Zygotenbehandlungsmethode, die Ulrich entwickelt hat, genauere Resultate an einem wohldefinierten Stadium zu erwarten. Die ersten Resultate der Untersuchungen über die Sauerstoffabhängigkeit der Röntgenstrahlenwirkung auf *Drosophila*-Zygoten des Stammes „Berlin wild" wurde an dieser Stelle von Ulrich (1958) veröffentlicht. Er fand, dass bei Dosiseffektkurven, die an einem einzigen Versuchstag gewonnen wurden, die embryonale Sterblichkeit durch Stickstoff-Umgebung während der Bestrahlung bei allen Dosen von 100—2000 r gesenkt wurde. Im Mutationsexperiment mit 1000 r konnte er zeigen, dass an rezessiven Letalfaktoren im X-Chromosom in N_2-Milieu nur 4,25% ausgelöst werden, gegenüber 6,5% in Luft (vergl. Ulrich 1958 b, p. 94). Als nächstes sollten nun womöglich ganze Dosiseffektkurven der Mutationsraten in Luft und Stickstoff gewonnen und die Dosisabhängigkeit des Sauerstoffeffektes geprüft werden.

Material und Methode

In den vorliegenden Versuchen wurden sowohl Sterblichkeiten als auch rezessiv-geschlechtsgebundene Letalfaktoren registriert. Als genetische Test-Methode wurde die von Ulrich für Zygotenbehandlung abgeänderte Muller 5-(Basc) - Technik verwendet (Ulrich 1957, 1958 *a*, *b*). In einer Legeapparatur (Ulrich 1953) brachten wir virgine +/+ ♀♀ und M5/Y ♂♂ zusammen und sammelten alle 10 Minuten die abgelegten Eier. Nach weiteren 10 Minuten, also im Alter der Eier von 10—20 Minuten nach der Ablage, hat bei 25° C im allgemeinen die erste Furchungsteilung noch nicht eingesetzt (Rabinowitz 1941, Ulrich 1957). Diese Zygoten wurden in einer Plexiglaskammer während 3 Minuten mit 50 keV Röntgenstrahlen total bestrahlt (Röntgengerät: Müller RT 100; Filter: Be-Eigenfilter, 1 mm Cellon). Die einzelnen Dosen wurden durch Variation des Abstandes Röhrenfocus — Objekt eingestellt (Dosimetrie: Philips Dosimeter 37 482). Bestimmte Gasumgebungen wurden durch Überströmung der Zygoten mit Luft oder Stickstoff realisiert (Versuchsanordnung siehe Ulrich 1960). Die Zygoten

Tabelle 1.

Dosis in r	Embryonale Sterblichkeit				Postembryonale Sterblichkeit				rezessiv-geschlechtsgebundene Letalfaktoren					
	N_2			Luft *	N_2			Luft *	N_2				Luft *	
	Versuchszygoten	getötete Embryonen	% ± 2 σ	% ± 2 σ	geschlüpfte Larven	getötete Larven + Puppen	% ± 2 σ	% ± 2 σ	geprüfte X-Chromosomen	Mutationen	% **		% **	
0	6 496	739	11,38 ± 0,79	13,52 ± 0,6	5 757	573	9,95 ± 0,79	10,20 ± 0,6	1 840	18	0,49	0,22 0,93	0,47	0,27 0,75
200	5 780	1 193	20,64 ± 1,06	35,36 ± 1,70	4 587	764	16,66 ± 1,10	21,46 ± 1,23	2 864	31	1,08	0,73 1,54	1,45	1,04 1,96
400	2 996	932	31,11 ± 1,69	56,11 ± 1,70	2 064	338	16,38 ± 1,63	26,16 ± 2,27	1 270	24	1,89	1,21 2,81	2,04	1,15 3,33
600	8 540	4 233	49,57 ± 1,08	71,29 ± 0,84	4 307	1 253	29,90 ± 1,38	39,76 ± 1,96	2 680	52	1,94	1,45 2,55	4,50	3,53 5,64
800	5 980	3 224	53,91 ± 1,29	82,35 ± 0,85	2 756	688	24,96 ± 1,65	42,31 ± 2,61	1 622	42	2,59	1,87 3,50	4,99	3,45 6,97
1 000	5 240	3 371	62,70 ± 1,04	88,78 ± 0,34	1 869	514	25,54 ± 1,57	48,34 ± 1,90	972	38	3,92	3,05 4,97	6,63	5,65 7,75
1 200	8 760	6 500	74,42 ± 0,94	—	2 260	1 039	45,97 ± 2,10	—	960	38	3,96	2,80 5,43	—	
1 400	6 740	5 399	80,10 ± 0,87	94,99 ± 0,15	1 341	648	48,32 ± 3,73	63,66 ± 1,52	492	22	4,47	2,81 6,77	8,55	7,01 10,40
2 400	36 000	32 874	91,16 ± 0,28	—	3 186	1 755	55,08 ± 0,56	—	1 196	140	5,85	4,57 7,39	—	

* Nach Ulrich 1960.
** Grenzen für 95 %-ige Sicherheit nach Stevens (1942) und Lamotte (1957).

befinden sich bereits 1 Minute vor Bestrahlungsbeginn im Gasstrom, um einen Ausgleich zwischen intrazellulärer und extrazellulärer Sauerstoff-Konzentration zu ermöglichen. Während der Bestrahlung strömte Luft oder Stickstoff mit max. 300 l/Std. durch die Bestrahlungskammer. Unmittelbar nach der Bestrahlung wurden die Zygoten in normale Zimmerluft überführt, auf Agarblöcken ausgezählt und in Zuchtgläsern bei 25° C aufgezogen. Nach 2 Tagen wurden die nicht geschlüpften Embryonen gezählt und damit die embryonale Sterblichkeit registriert. Aus der Differenz zwischen geschlüpften Imagines und geschlüpften Larven liess sich die postembryonale Sterblichkeit errechnen. Die überlebenden +/M5 ♀♀ wurden mit den +/Y ♂♂ desselben Aufzuchtglases paarweise gekreuzt und so auf rezessive geschlechtsgebundene Letalfaktoren geprüft. An einem Tage wurde, wenn möglich, mit Eiern derselben Eltern ein Versuch mit bestimmter Dosis in Luft und in Stickstoff durchgeführt.

Ergebnisse

Im Laufe eines Jahres wurden zahlreiche Experimente mit insgesamt rund 300.000 Zygoten durchgeführt. Über die Bestrahlungen in Luft berichtet Ulrich 1960. Die Resultate der Versuche in Stickstoff-Atmosphäre sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Die embryonale Sterblichkeit ist berechnet auf die Gesamtzahl der Versuchszygoten, die postembryonale Sterblichkeit jedoch auf die Zahl der geschlüpften Larven. Die Prozentsätze sind mit dem Sicherheitsgrenzen $\pm$ 95% ($\pm$ 2 σ) angegeben. Für die Mutationsrate wurden die Sicherheitsintervalle für 95% Erwartung nach Stevens (1942) und Lamotte (1957) berechnet.

Diskussion

Alle gefundenen Dosiseffektkurven in Luft und Stickstoff für embryonale (Abb. 1), postembryonale Sterblichkeit (Abb. 2) und rezessiv-geschlechtsgebundene Letalfaktoren (Abb. 3) ergeben Kurven von Typus:

$$y = 1 - e^{-kD}$$

wobei y den registrierten Effekt, D die Dosis und k eine Konstante bedeutet. Die Kurven wurden ermittelt durch Berechnung der

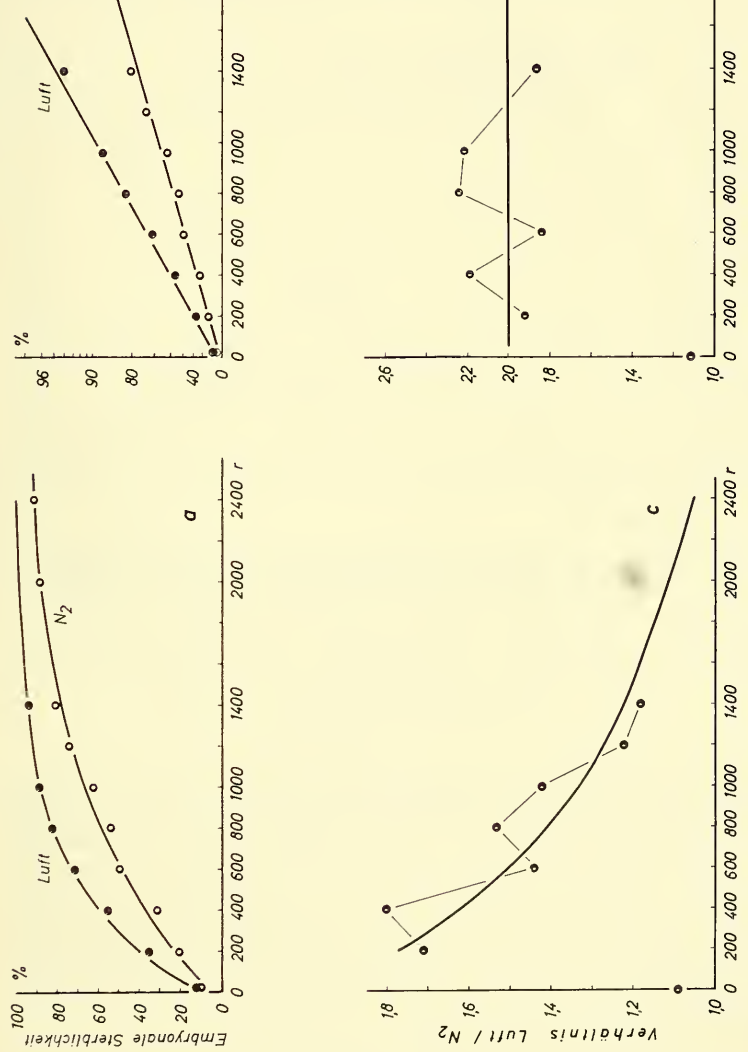

Abb. 1.

Embryonale Sterblichkeit bei Bestrahlung von *Drosophila*-Zygoten in Luft oder Stickstoff. *a*) arithmetische, *b*) semilogarithmische Darstellung.

Darstellung des Quotienten: Effekt in Luft / Effekt in N_2. *c*) Bei Verwendung der rohen Versuchsresultate (arithmetischer Darstellung). *d*) Unter Berücksichtigung mehrfach abgetöteter Embryonen (semilogarithmische Darstellung).

Regressionsgeraden nach Umrechnung auf Logarithmen. Um die Grösse und eventuelle Aenderungen des Sauerstoffeffektes über einen grösseren Dosisbereich zu untersuchen, muss man die Kurven in semilogarithmischem Masstabe vergleichen. Dies hat seinen Grund darin, dass ab einem gewissen Prozentsatz von Abtötungs- oder Mutationsereignissen mit zunehmender Wahrscheinlichkeit in einem Individuum zwei oder mehrere Letaleffekte oder Muta-

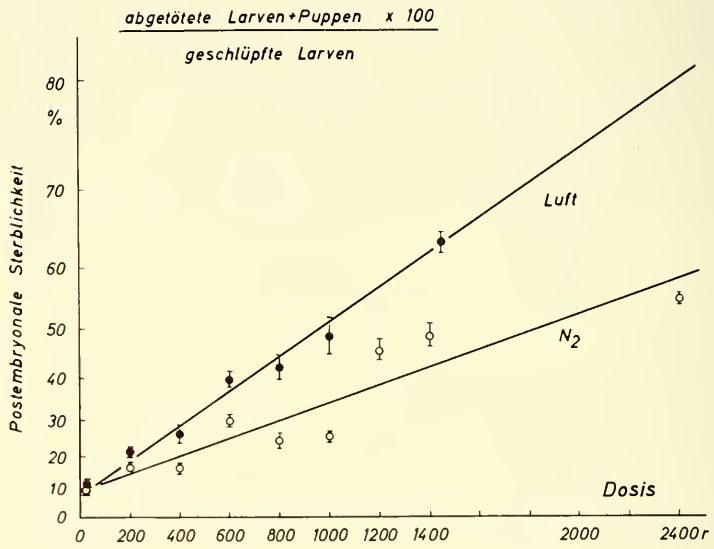

Abb. 2.
Postembryonale Sterblichkeit bei Bestrahlung von *Drosophila*-Zygoten in Luft oder Stickstoff (semilogarithmische Darstellung).

tionen auftreten können. Unsere Methode lässt uns aber nur die abgetöteten oder mutierten Individuen erkennen, nicht aber die 2 oder mehrfach abgetöteten. Um mehrfache Mutationsereignisse festzustellen, müssten die registrierten Letalfaktoren weiter analysiert werden. Bildet man das Verhältnis von Effekt in Luft zu Effekt in Stickstoff einfach nach den rohen Versuchsresultaten (Abb. 1*a* arithmetisch) so muss eine mit steigender Dosis fallende Kurve (Abb. 1*c*) resultieren. Aus Vergleichen von rohen Einzelresultaten bei 1000 und 2000 r schloss H. Fritz-Niggli (1959 *a*, *b*) auf eine Dosisabhängigkeit des Sauerstoffeffektes bei der Auslösung

von dominanten und rezessiven Letalfaktoren bei *Drosophila*. Berücksichtigt man jedoch die mehrfachen Ereignisse, die in einzelnen Individuen auftreten können (Abb. 1*b*), so hat man zwei Geraden zueinander ins Verhältnis zu setzen und erhält in unserem Falle eine Horizontale (Abb. 1*d*). Die Versuchsresultate für embryonale und postembryonale Sterblichkeit und für rezessive Letalfaktoren entsprechen den erwarteten Kurven.

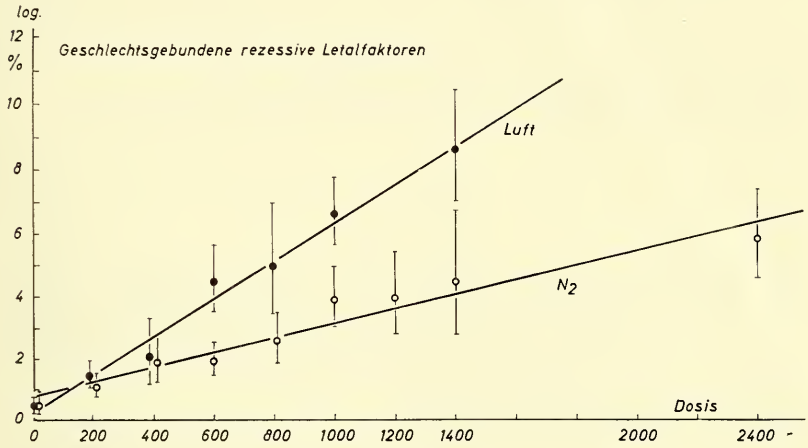

Abb. 3.

Abhängigkeit der Rate rezessiv-geschlechtsgebundener Letalfaktoren von der Röntgenstrahlendosis und der Gasumgebung während der Bestrahlung (semilogarithmische Darstellung). Kurve in Luft nach Ulrich 1960.

Zusammenfassung

1. Der von Ulrich gefundene Sauerstoffeffekt auf die embryonale (Ulrich 1958) und postembryonale Sterblichkeit (unveröffentlicht) bei Total-Bestrahlung von *Drosophila*-Zygoten des Stammes „Berlin wild" liess sich auch an Dosiseffektkurven von F_1-Zygoten der Kreuzung „Berlin wild" × Muller 5 (Basc) nachweisen.

2. Die neuen Versuche wurden nicht an einem Tage, sondern an verschiedenen Tagen im Laufe eines Jahres durchgeführt. Dass die gefundenen Dosiseffektkurven mit denen von Ulrich gut übereinstimmen, zeigt, dass die Methode bei genügend grossen Versuchszahlen reproduzierbare Ergebnisse liefert.

3. Bei Bestrahlung der Zygoten in Stickstoffatmosphäre steigt die Häufigkeit der rezessiven geschlechtsgebundenen Letalfaktoren in semilogarithmischer Darstellung linear mit der Dosis an.

4. Ein Vergleich der Mutations-Dosiseffektkurven bei Bestrahlung der Zygoten in Luft (Ulrich 1960) und in Stickstoff lässt erkennen, dass die Häufigkeit rezessiv-geschlechtsgebundener Letalfaktoren bei allen analysierbaren Dosen von 200—1400 r in N_2 gleichermassen gesenkt wird.

5. Eine mathematische Analyse aller Versuchsergebnisse zeigt, dass die embryonale und postembryonale Sterblichkeit, ebenso wie die Mutationsraten, bei allen untersuchten Dosen durch Anoxie während der Bestrahlung auf rund die Hälfte gesenkt wird.

LITERATUR

Fritz-Niggli, H. 1959. a. *Strahlenbiologie.* Thieme, Stuttgart. 379 pp

— 1959 b. *Strahlengenetik der Drosophila.* Strahlenbiol., Strahlen. therapie, Nuclearmedizin und Krebsforsch. I: 157-210.

Lamotte, L. 1957. *Initiation aux méthodes statistiques en biologie.* Masson, Paris. 144 pp.

Oster, J. 1958. *Radiosensitivity.* Genen en Phaenen 3: 53-66.

Rabinowitz, M. 1941. *Studies on the cytology and early embryology of the egg of* Drosophila melanogaster. J. Morphol. 39: 1-49.

Stevens, W. L. 1942. *Accuracy of mutation rates.* J. Genet. 43: 301-307.

Ulrich, H. 1953. *A convenient method of collecting large numbers of* Drosophila *eggs homogeneous in age.* Dros. Inf. Serv. 27: 124-125.

— 1957. *Die Strahlenempfindlichkeit von Zellkern und Plasma und die indirekte mutagene Wirkung der Strahlen.* Verhdl. Deutsch. Zool. Ges. in Hamburg 1956: 150-182.

— 1958 a. *Die mutagene Röntgenstrahlenwirkung auf das ungefurchte* Drosophila-*Ei und ihre Sauerstoffabhängigkeit.* Rev. suisse Zool. 65: 442-448.

— 1958 b. *Strahlengenetische Untersuchungen an* Drosophila-*Eiern.* Archiv Julius Klaus-Stiftung 33,3/4: 90-97.

— 1960. *Die Beziehung zwischen Strahlendosis und Mutationsrate bei Röntgenbestrahlung von* Drosophila-*Zygoten.* Rev. suisse Zool. 67: 287-295.